

FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI *EDIBLE* *FILM* EKSTRAK BIJI PINANG (*Areca catechu* Linn)

Wida Ningsih

^{1,2} Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat
Jalan Pasie Nan Tigo Koto Tengah Padang
Email: nwida777@gmail.com

INTISARI

Tanin yang terkandung dalam ekstrak biji pinang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Untuk mempermudah penggunaan ekstrak biji pinang sebagai antibakteri diformulasi menjadi bentuk edible film dengan konsentrasi 2,5 %, 3% dan 3,5 %. Pembuatan *edible film* menggunakan metoda *solvent casting* dan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metoda difusi agar darah. *Edible film* ekstrak biji pinang yang dibuat dilakukan evaluasi meliputi organoleptis, ketebalan, kerapuhan, kandungan air, pH, dan uji *swelling*. Hasil evaluasi *edible film* ekstrak biji pinang menunjukkan karakteristik yang hampir sama dengan edible film yang sudah beredar dipasaran yang digunakan sebagai pembanding. Adanya aktifitas antibakteri dari edible film ekstrak biji pinang ditandai terbentuknya zona bening. Hasil pengujian aktifitas antibakteri edible film ekstrak biji pinang 2,5 %, 3 % dan 3,5 % menunjukkan diameter rata-rata zona bening rata 14,96 mm, 15,49 mm dan 17,05 mm yang termasuk kategori kuat.

Kata kunci: Biji Pinang, antibakteri, edible film, tannin, streptococcus

ABSTRACT

The tannins contained in areca nut extract can inhibit the growth of *Streptococcus mutans* bacteria. To facilitate the use of betel seed extract as an antibacterial, it was formulated into an edible film with a concentration of 2.5%, 3% and 3.5%. Making edible films using solvent casting method and testing antibacterial activity using blood agar diffusion method. The edible film of areca nut extract made an evaluation included organoleptic, thickness, brittleness, water content, pH, and swelling test. The evaluation results of betel nut edible film extract showed almost the same characteristics as the edible film that had been circulating in the market which was used as a comparison. The presence of antibacterial activity from edible pinang seed extract is marked by the formation of clear zones. The test results of antibacterial edible activity of areca nut extract films 2.5%, 3% and 3.5% showed the average diameter of clear zone was 14.96 mm, 15.49 mm and 17.05 mm which were included in the strong category.

Keywords: *Areca catechu* Linn, antibacterial, edible film, tannin, streptococcus

Corresponding author:
Wida Ningsih
Universitas Muhammadiyah Sumatera Barat
Jalan Pasie Nan Tigo Koto Tengah Padang
Email: nwida777@gmail.com

PENDAHULUAN

Halitosis merupakan istilah umum yang digunakan untuk menggambarkan nafas tidak sedap yang berasal dari rongga mulut maupun diluar rongga mulut. Penyebab dari rongga mulut biasanya karena perawatan kebersihan mulut yang buruk, karies gigi, infeksi rongga mulut, mulut kering, mengonsumsi rokok, sisa makanan dalam mulut (Brotosoetarno, 1997; Cortelli *et al.*, 2008).

Faktor-faktor dari luar rongga mulut yang menjadi penyebab halitosis, antara lain infeksi saluran pernafasan, infeksi gastrointestinal, karsinoma, dan diabetes (Van de Broek *et al.*, 2008). Kondisi yang dapat memicu bau mulut ialah meningkatnya bakteri dalam mulut, kurangnya *flow saliva*, pH rongga mulut yang lebih bersifat alkali dan adanya sisa makanan yang tertinggal yang diproses oleh flora normal mulut (Widagdo dan Suntya, 2007). Selain itu, koloni bakteri yang ditemukan pada awal pembentukan plak adalah bakteri *Streptococcus mutans* yang banyak diyakini para ahli sebagai penyebab utama terjadinya karies pada gigi (Michalek and Mc Ghee, 1982). Pertumbuhan *Streptococcus mutans* harus dihambat agar tidak menjadi patogen dan menyebabkan karies dengan pemberian bahan antibakteri. Salah satu cara pencegahan karies adalah mengusahakan agar pembentukan plak pada permukaan gigi dapat dibatasi baik dengan cara mencegah pembentukannya atau dengan pembersihan plak secara teratur. Pengendalian plak dapat dilakukan dengan cara pembersihan plak secara mekanis dan kimia yang mengandung bahan anti kuman yang dapat menekan pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan karies gigi karena *Streptococcus mutans* mempunyai kemampuan membuat polisakarida ekstraseluler yang dapat menyebabkan matrik plak sehingga membantu bakteri untuk melekat pada gigi (Pratiwi, 2005).

Biji pinang tumbuhan yang mengandung tannin terkondensasi, tannin terhidrolisis, flavonoid, senyawa fenolik, asam galat dan 0,3-0,6 % alkaloid seperti arekolin ($C_8H_{13}NO_2$), arekolidin, arekain, guvakolin, guvasine, dan isoguvasine (Wang and Lee, 1996). Senyawa antibakteri biasanya terdapat pada golongan senyawa saponin, fenolat, flavonoid, terpenoid, steroid dan alkaloid (Panjaitan, 2008).

Edible film merupakan lapisan tipis yang terbuat dari bahan-bahan yang dapat di konsumsi, digunakan untuk melapisi makanan, proses pengawetan, melindungi makanan dari mikroorganisme, memperbaiki penampilan produk, pembawa senyawa antibakteri, dan mencegah hilangnya kualitas makanan (Krochta, 1992).

METODE PENELITIAN

Metode penelitian meliputi : alat alat gelas, kertas perkamen, timbangan digital, lemari pendingin, botol maserasi, kertas saring, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, *rotary evaporator*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, batang pengaduk, oven, furnace, desikator, pinset, spatel, alat cetak *edible film* hasil modifikasi, alat uji ketebalan film (mikrometer skrup), pH meter Inolab, dan *Roche friabilator*, cawan petri, erlenmeyer, penjepit, inkubator, LAF (*Laminar Air Flow*), autoklaf, mikroskop, Spektrofotometer UV-Vis, lampu spritus, jarum ose, kapas steril, koran bekas, kain kasa steril.

Bahan-bahan yang digunakan adalah biji pinang, etanol 96%, etanol 70%, pati jagung, HPMC, sorbitol 70%, Na-sakarum, minyak permen, menthol, nipagin, nipasol, kloroform, $FeCl_3$, $HCl_{(p)}$, serbuk Mg, norit, $H_2SO_{4(p)}$ dan aquadest, biakan bakteri *Streptococcus mutans*, media blood agar base, *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO), larutan NaCl fisiologis, Pembanding “Go Fresh” (PT. Aquasolve Sanaria).

JALANNYA PENELITIAN

1. Ekstraksi

Buah pinang dibelah dua, diambil bagian dalam yang lunak, dibuang kulitnya, dicuci, dipotong dengan ketebalan 2-5 mm dan dikeringkan \pm 1 minggu kemudian diserbukkan dan ditimbang sebanyak 1000 g. Satu bagian serbuk biji pinang ditambahkan 10 bagian pelarut. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi, dimana sampel dimasukkan dalam botol berwarna gelap yang terlindung dari cahaya matahari. Dimasukkan 1000 g serbuk kering simplisia ke dalam botol berwarna gelap, ditambahkan 10 L etanol 70%. Sampel direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi. Penyarian diulangi sekurang-kurangnya dua kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah pelarut yang sesuai (sampai sampel terendam). Dikumpulkan semua maserat, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2011).

2. Pembuatan *edible film* Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* Linn)

Pati jagung didispersikan dalam beberapa bagian aquadest kemudian dipanaskan pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$, diaduk hingga terbentuk gel jernih. HPMC dikembangkan dalam aquadest ditambah sorbitol, diaduk pada suhu yang dijaga $\pm 60^{\circ}\text{C}$. Kedua gel dicampurkan pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$, ditambah bahan-bahan yang lain (larutan natrium sakarin, ekstrak biji pinang, nipagin, nipasol, mentol, minyak permen, dan sisa air) pada suhu kamar, diaduk homogen lalu dituangkan dan diratakan pada cetakan (27,5 x 18 cm). Pengeringan dilakukan di dalam oven pada suhu 40 – 45 $^{\circ}\text{C}$ selama 18 jam, lalu dilepaskan dari cetakan lalu dipotong dengan ukuran 2,2 x 3,2 cm (Arifin *et al.*,2010).

3. Pengujian aktivitas antibakteri *edible film* ekstrak biji pinang

- a. Pengujian aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans* terhadap ekstrak biji pinang
Sebanyak 0,5 mL suspensi mikroba dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan 10 mL *blood agar* dan dihomogenkan. Setelah media padat, selanjutnya kertas cakram steril ditetes dengan 10 μL sediaan uji kemudian diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$, selama ± 24 jam. Diamati pertumbuhan bakteri dan diukur diameter daya hambat ditandai dengan adanya area bening yang menandakan daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Pengujian dilakukan terhadap ekstrak biji pinang 2,5%, 3%, 3,5%, sebagai kontrol negatif DMSO.
- b. Pengujian aktivitas antibakteri *edible film* ekstrak biji pinang
Sebanyak 0,5 mL suspensi mikroba dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu ditambahkan 10 mL media *blood agar* dan dihomogenkan. Setelah media padat, selanjutnya lembaran *film* berdiameter 5 mm diletakkan di atas media agar kemudian diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}\text{C}$, selama ± 24 jam. Diamati pertumbuhan bakteri dan diukur diameter daya hambat ditandai dengan adanya area bening yang menandakan daerah yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Pengujian dilakukan terhadap sediaan F1, F2, F3 dan sebagai kontrol negatif basis *edible film*, pembanding sediaan yang sama (GF[®]) (Amaliya dan Putri, 2014).

ANALISIS DATA

Data hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak biji pinang dalam sediaan *edible film* diolah secara statistik dengan analisis variasi (ANOVA) satu arah. Hasil akan berarti bila perbandingan daya hambat pada setiap formula memberikan perbedaan yang nyata dan bermakna secara statistik.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Karakterisasi ekstrak buah pinang

Karakterisasi parameter spesifik ekstrak biji pinang yang dilakukan meliputi organoleptis sesuai dengan yang tercantum pada buku farmakope herbal, sedangkan kelarutan ekstrak biji pinang dalam air termasuk klasifikasi larut dan dalam etanol termasuk klasifikasi mudah larut serta pH dari ekstrak biji pinang 5,14. Parameter non spesifik ekstrak biji pinang seperti susut pengeringan dan kadar abu sebesar 3,54 % dan 1,13 %. Hasil yang didapatkan tidak melebihi dari yang ditetapkan pada farmakope herbal. Pemeriksaan fitokimia ekstrak biji pinang menunjukkan biji pinang mengandung senyawa fenolik, flavonoid, saponin, steroid, alkaloid dan tanin (Febriani *et al.*, 2014).

2. Evaluasi Edible Film Organoleptis



Gambar 1. Hasil Pemeriksaan Organoleptis masing-masing formula

Pemeriksaan organoleptis edible film dilakukan selama 6 minggu menunjukkan bentuknya berupa lapisan tipis untuk semua formula. Sedangkan untuk warna edible film terlihat berbeda yang disebabkan karena perbedaan konsentrasi ekstrak pada setiap formula dimana pada formula yang mengandung ekstrak berkonsentrasi besar warnanya akan semakin berwarna coklat transparan, begitu juga rasa edible film terdapat perbedaan semakin besar konsentrasi ekstrak maka rasa edible

film terasa manis sedikit kelat. Edible film yang disimpan selama 6 minggu terlihat stabil karena tidak menunjukkan perubahan bentuk, warna dan rasa selama penyimpanan.

Uji Kerapuhan

Uji kerapuhan berguna untuk melihat ketahanan edible film selama proses pembuatan dan distribusi. Pengujian ini menggunakan alat *Roche Friabilator*. Hasil pengujian kerapuhan edible film sebagai berikut F0= 0,158%, F1= 0,181%, F2= 0,201%, F3= 0,280%, P= 0,145%. F3 menunjukkan lebih rapuh dibandingkan dengan semua formula dan pembanding. Pada saat pengujian tidak terlihat edible film yang rusak tetapi bagian tepi edible film terlihat sedikit patah terutama untuk F3.

Susut Pengeringan

Susut pengeringan dilakukan untuk melihat kandungan air dan jumlah senyawa yang hilang pada suhu pemanasan 105 °C. Hasil pemeriksaan susut pengeringan *edible film*, didapatkan nilai susut pengeringan F0, F1, F2, F3 dan P secara berurutan adalah 13,81%, 13,48%, 13,72%, 13,73% dan 11,70%.

Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan untuk mengetahui pH edible film yang diformulasi sesuai dengan pH fisiologis mulut agar tidak menimbulkan reaksi iritasi pada saat penggunaan edible film. Pemeriksaan pH *edible film* dilakukan selama 6 minggu. Nilai rata - rata pH *edible film* yang didapatkan berkisar antara 6,19 – 6,84. Hasil pengukuran menunjukkan pH memenuhi rentang pH fisiologis mulut yaitu berkisar antara 5,5 – 7,9 (Barman dan Umesh, 2015).

Pengukuran ketebalan

Pengukuran ketebalan edible film dilakukan pada lima sisi yang berbeda, rata – rata kelima pengukuran merupakan ketebalan dari edible film. Hasil pengukurannya sebagai berikut : F0= 0,01±0,004, F1= 0,02±0,02, F2= 0,05±0,007, F3= 0,052±0,008, P= 0,01±0,01. Perbedaan ketebalan edible film terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi ekstrak yang dikandung pada masing – masing formula, dimana F3 paling tebal dibandingkan F1, F2 dan F0. Perbedaan ketebalan juga terjadi pada setiap sisi *edible film* yang dibuat, karena proses pembuatan menggunakan metoda *casting*. Sedangkan pembanding dari edible film yang sudah beredar di masyarakat menggunakan alat produksi yang lebih canggih menunjukkan warna dan ketebalan yang sama pada setiap sisinya.

Pengujian waktu mengembang edible film

Pengujian ini dilakukan untuk menentukan berapa lama waktu yang dibutuhkan edible film mengembang, pecah dan melarut dimulut. Hasil uji waktu mengembang sebagai berikut : F0= 4,18 detik, F1= 7,35 detik, F2= 12,17 detik, F3= 14,41 detik dan P=3,21 detik. Peningkatan konsentrasi ekstrak mempengaruhi waktu mengembang sediaan, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin lama juga *edible film* ini mengembang. Diduga mekanisme hancurnya *film* melalui mekanisme *swelling* dan *wicking*. Adapun mekanisme *swelling* yaitu setelah *film* kontak dengan air maka terjadi penetrasi air karena kapilerisasi (*wicking*) sehingga *film* mengembang dan mekanisme *wicking* yaitu adanya air yang ditarik oleh disintegran, maka air akan berpenetrasi masuk ke dalam pori – pori *film* akibatnya ikatan antar partikel menjadi lemah dan *film* mengembang (Kroetha, 1994).

Pengujian aktifitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*

Pengujian dilakukan menggunakan media agar darah yang merupakan media spesifik untuk bakteri golongan alfa haemolitik yang dapat mereduksi zat besi di dalam hemoglobin sehingga dapat memberikan ciri yang khas.

Bakteri uji disuspensikan kedalam larutan NaCl fisiologis 0,9% karena larutan NaCl fisiologis merupakan lingkungan yang isotonik bagi bakteri uji. Lalu suspensi dihomogenkan dengan vortex dan diukur kekeruhannya menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 580nm transmittan 25% (Jasril *et al.*, 2012).

Pengujian ini menggunakan metode difusi agar dan meletakkan edible film dengan diameter 5 mm di atas media agar darah. Hasil pengujian aktifitas edible film ekstrak biji pinang menunjukkan zona hambat berupa area bening rata-rata F0 = 4,26 mm ±0,251; F1 = 14,96 mm±0,0036; F2 = 15,49 mm±0,165 dan F3 = 17,05 mm±0,264. Adanya area bening yang merupakan diameter daya hambat

menunjukkan bahwa ekstrak biji pinang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Menurut penelitian yang dilakukan Zhou (2001) menjelaskan bahwa biji pinang merupakan salah satu jenis tanaman yang mengandung turunan polifenol yaitu katekin. Berdasarkan penelitian Masduki (1996) juga menjelaskan bahwa biji pinang mengandung senyawa alkaloid 1,45% yang memiliki daya antiseptik dan antibakteri. Hal tersebut dipertegas oleh Scalbert dalam Lapu dan Ngaro (2001) bahwa biji pinang juga mengandung tanin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengikat enzim ekstraseluler sehingga aktivitas enzim akan terhambat dan proses metabolisme sel bakteri akan terganggu dan pertumbuhan bakteri juga terganggu.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ekstrak biji pinang dalam bentuk edible film dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* yang termasuk katategori kuat.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada semua tim yang membantu dalam penelitian ini sehingga terciptanya suatu produk *Edible film* dari ekstrak biji pinang.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, M. F., Nurhidayati, L., Syarmalina, dan Rensy. 2010. Formulasi *Edible Film* Ekstrak Daun sirih (*Piper betle* L.) sebagai Antihalitosis. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Jakarta.
- Barman, I., G, Umesh Chandra P. 2015. Effects of Habitual Arecanut and Tobacco Chewing on Resting Salivary Flow Rate and pH. *Int. J. Oral Health Med Res*;2(1):13-18.
- Brotosoetarno, S., 1997. Peran Serta Mikroorganisme dalam proses Terjadinya Karies Gigi, *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia*, Volume 7, Edisi Khusus KPPIKGIX, FKG Universitas Indonesia, Jakarta.
- Cortelli, J. R, Barbosa, M. D. S., and Westphal, M. A., 2008. Halitosis: A Review of Associated Factors and Therapeutic Approach, *Braz Oral Res*, 22(1): 44-54.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Direktorat Jenderal POM: Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Direktorat Jenderal POM: Jakarta.
- Febriani, Y., Hidayat, S., and Seftiana, S., 2014. Aktivitas Anti Cacing Ekstrak Etanol Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Terhadap *Ascaridia galli*. *Indonesia Journal of Pharmaceutical Science and Tehnology*. Vol 3 No.2.
- Krochta, J.M. 1992. *Control of Mass Transfer in Food with Edible Coating and film*, advances in food Engineering, CRC Press, Boca Raton, F. L. 517-538.
- Krochta, J.M., EA Baldwin., and MO Nisperos-Carriedo., 1994. *Edible Coating and Film to Improve Food Quality*, Technomic Publishing Company, New York.NY.
- Lapu, P. Dan N.R. Ngaro. 2001. Pengaruh In Vitro Ekstrak Daun Nimba (*Azadirachata indica*) terhadap Bakteri Patogen Udang Windu (*Vibrio Alginolyticus*). *Journal Biosains* 6(2) : 49-53
- Masduki, Imam.1996. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu*) Terhadap S. Aureus dan E. Coli In Vitro. *Cermin Dunia Kedokteran* 109 : 21-23.
- Michalek, S. M., and Mc Ghee, J. R., 1982, *Dental Microbiology*, 4th Ed., 680-687, Harper & Raw Publisher, Philadelphia.
- Panjaitan, RR. 2008. *Pengembangan Pemanfaatan Sabut Pinang untuk Pembuatan Asam Oksalat*. Berita Litbang Industri Media Publikasi dan Komunikasi Peneliti Industri Vol.39 No.1. Juli 2008
- Pratiwi, Rini. 2005. Perbedaan daya hambat terhadap *Streptococcus mutans* dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal. *J Dent*; 38 :64-67.
- Van de Broek., Feenstra, L., and de Baat, C., 2007. A Review of the Current Literature on Management of Halitosis, *Journal of Oral Disease*, 14: 30-39.

-
- Voigt, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*, Diterjemahkan oleh S. Noer, Universitas Gadjah Mada Press, Yogyakarta.
- Widagdo, Yanuaris dan Suntya, Kristina. 2007. *Volatile Sulfur Compounds Sebagai Penyebab Halitosis*. Denpasar: Kumpulan jurnal FKG Universitas Mahasaraswati. Volume 5 No 3. Halaman 2.
- Zhou, H. James. 2001. Composition and Method for Inhibiting Oral Bacteria. US Patent 20. 1 hlm. <http://www.patentstorm.us/patent/6319523-description.html>. 7 Maret 2007.